

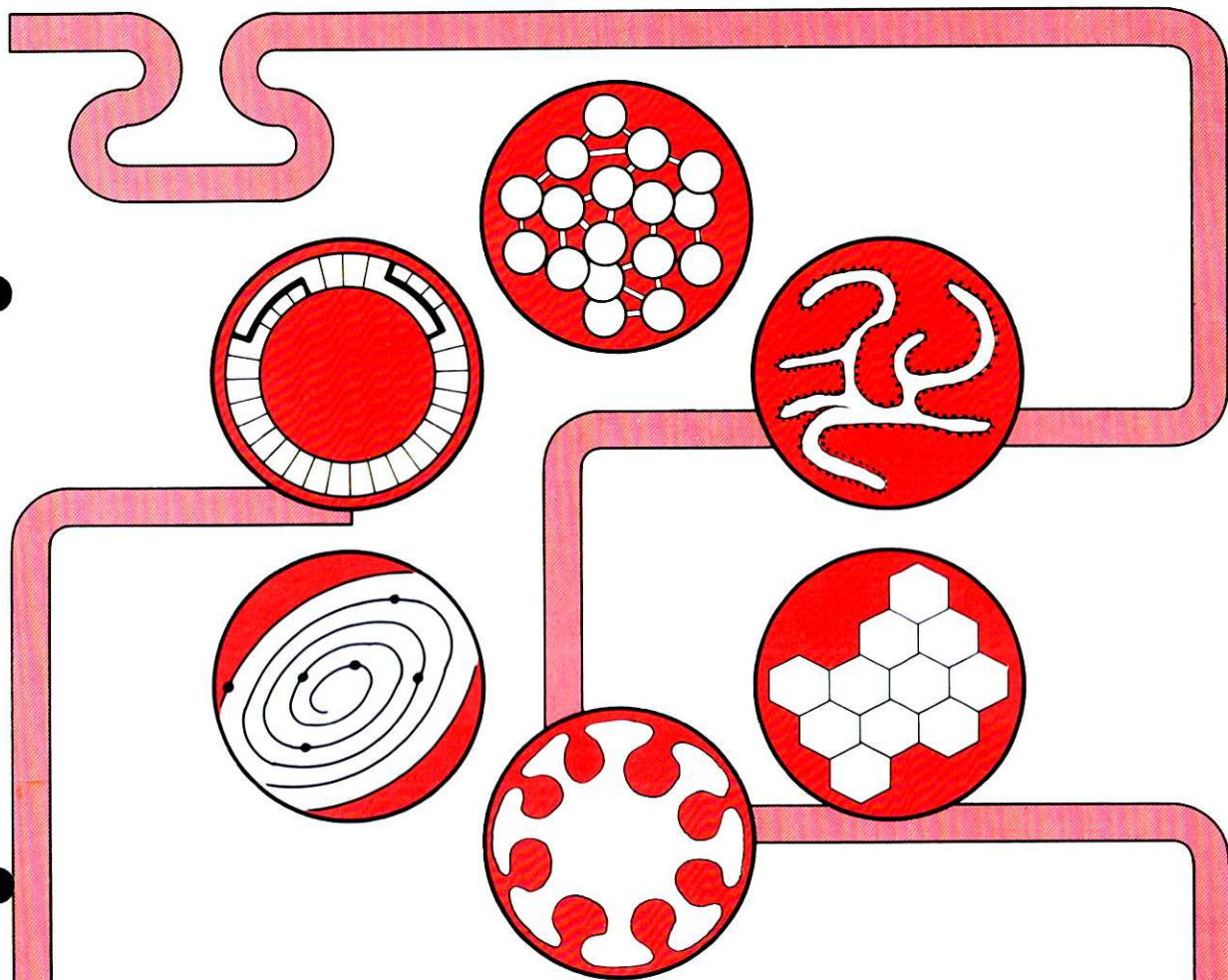
THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446

KANTO CHEMICAL CO., INC.

1989年 No.4 (通巻134号)



目 次

Isodityrosine を含む新しい生理活性オリゴペプチドの合成	山 村 庄 亮	74
味覚修飾物質をめぐる最近の話題	西 山 繁	84
生体中に存在する常量必須元素の機能(II)	栗 原 良 枝	90
くすりの文化交流(12)	今 井 弘	94
—— 文明開化の贈物 ——	根 本 曾 代 子	94

編集後記	96
------	----

Isodityrosine を含む新しい生理活性オリゴペプチドの合成

慶応義塾大学 理工学部 化学科 教授 理学博士 山 村 庄 亮
工学博士 西 山 繁

1. はじめに

近年、高速液体クロマトグラフィーをはじめとする新しい分離技術の開発と、超電導 NMR 装置に代表される機器分析の著しい進歩にともない、天然物化学は目覚ましい発展を遂げてきた。現在、抗腫瘍性や抗菌性をはじめとする有用な生理活性物質を自然界に求める努力が以前にもまして一層活発になされている。他方、生物自身のさまざまな生命現象についても、それに関連した超微量物質を追求することによりその仕組みが次第に明らかに

なってきた。

他方、有機合成化学の立場から見ると、顕著な生理作用と複雑な構造をもつ天然物は格好の標的化合物となる。さらに一歩進んで、発見された天然物を鋳型として、より優れた生理活性物質の合成も可能であろう。本稿では、L-チロシン由来のオリゴペプチド、特に "isodityrosine" を含む新しいタイプの生理活性物質に焦点をあて、Fig. 1 に示すオリゴペプチド及び関連化合物の合成について述べる。

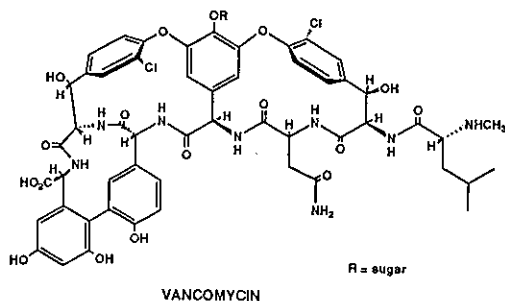
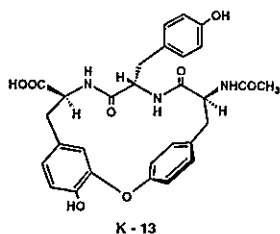
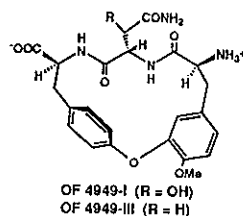
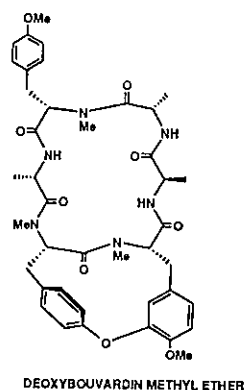
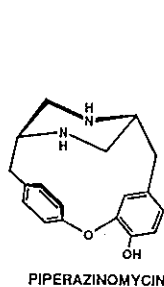
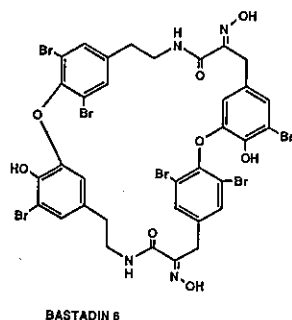


Fig. 1

SHOSUKE YAMAMURA, D. Sc.
SHIGERU NISHIYAMA, D. Eng.
Department of Chemistry,
Faculty of Science and Technology, Keio University

- 2 -

Synthesis of new bioactive oligopeptides
including isodityrosine unit.

2. バスタジン-6の合成

1981年, Kazlauskas らは, オーストラリアに生息する海綿 (*Ianthella basta*) からグラム陽性の抗菌性を示す数種のバスタジン類を分離し, さらに, X-線結晶解析によりこれらの化合物の構造を明らかにした¹⁾. バスタジン類はユニークな構造をもち, 4分子のチロシンから生合成されると思われる。特に, バスタジン-6は28員環のラクタム構造を持ち, さらに X-線結晶解析の結果, オキシム基の1つがラクタム環の上に被さっていることが判明した。したがって, バスタジン-6はクラウンエーテル等

とは異なった新しいタイプの大環状化合物と見なされ, 金属イオンの取り込みなどの点で興味もたれる。

さて, 筆者らは, フェノールの電解酸化やタリウム(III)塩を用いた酸化反応により多数の生理活性天然物を合成してきたが²⁾, その過程で, ジフェニルエーテル類の簡単な合成法を開発した³⁾. 現在, 収率的には必ずしも満足すべき値は得られていないが, 従来の Ullmann 反応とは全く異なったタイプの合成法で, 以下に示すように利点も多い。Fig.2 にバスタジン-6の全合成を示した⁴⁾。

Total Synthesis of Bastadin - 6

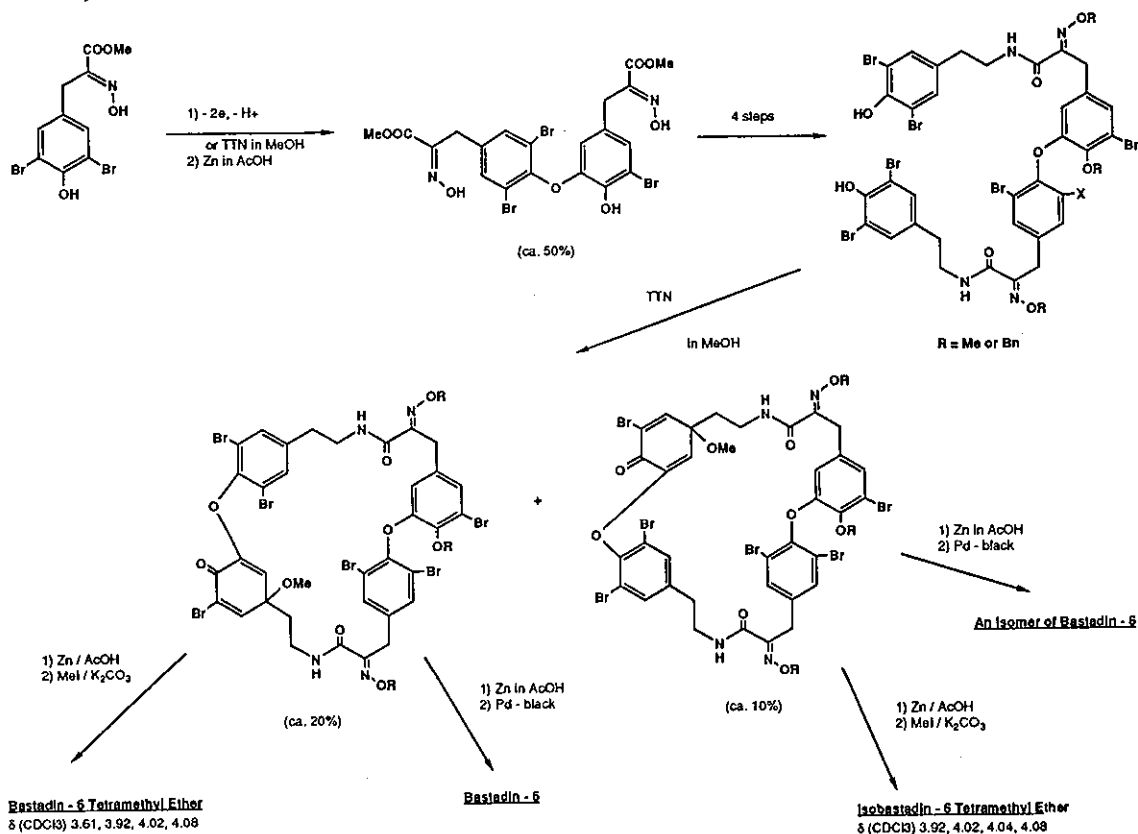


Fig. 2

本合成にあたり, 筆者らは, 2度ジフェニルエーテル形成反応を用いているが, 3,5-ジブromo-4-ヒドロキシフェニルピルビン酸オキシムの酸化的二量化の場合には, 電解酸化又は硝酸タリウム (TTN) 酸化のどちらの方法を用いても目的を達することが出来るが, 分子内でのジフェニルエーテル形成反応は TTN 酸化によってのみ進行する。すなわち, Fig.3 に示したように, TTN 分子が

基質のフェノールと分子内でタリウム塩を生成し, 次いで酸性的に Tl-O 結合が開裂してエーテル結合が生成すると思われる。なお, ジエノン中間体に対する溶媒分子の攻撃する位置により副生成物が生じ, 目的のジフェニルエーテル体の収率が低下する。

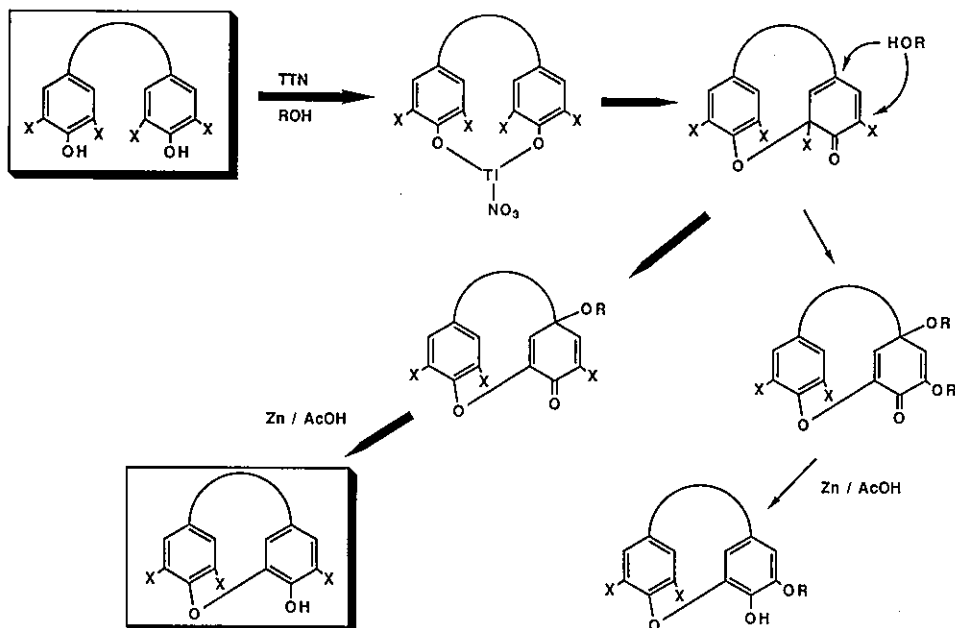


Fig. 3

3. ビペラジノマイシン

ビペラジノマイシンは抗カビ及び抗イースト活性を示し, *Streptoverticillium olivoreticuli* subsp. *neoenacticus* の微量代謝産物として Nakamura らにより単離, 構造決定された^{5,6)}. ビペラジノマイシンは, 2分子の L-チロシンから生合成されたと考えられ, X-線結晶解析の結果⁶⁾, 14員環のジフェニルエーテル環はかなり歪んでいることがわかった。これ迄, いくつかのグループによりビペラジノマイシンの合成研究がなされているが, Ullmann

反応を用いる限り成功はおぼつかない。筆者らは, Fig. 4 に示した合成経路にしたがい, 収率的には改良する余地はあるが, ビペラジノマイシンの全合成に成功した⁷⁾。本研究において, 歪みの高い14員環エーテルを形成する鍵反応は, フェノールの TTN 酸化である。Fig. 3 に反応機構を示したように, 中間体の Ti-O 結合が酸化的に開裂して14員環エーテルが生成する。この場合, 反応の容易さは, ジエノン側の炭素原子が sp^3 となり, 14員環の歪みがかなり軽減されるためと思われる。

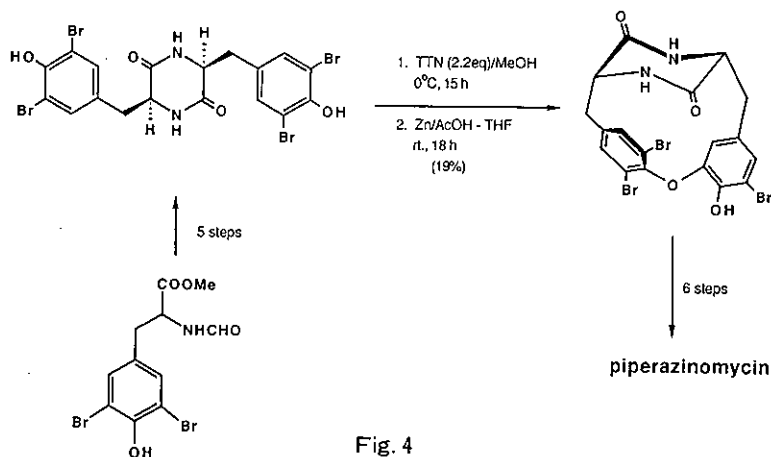


Fig. 4

4. デオキシボウバルジンメチルエーテル (RA-VII) の合成

1977年, Bates らは, アカネ科の植物 (*Bouvardia ternifolia*) から 2 種の抗癌性ヘキサペプチド (ボウバルジン, デオキシボウバルジン) を単離し, 次いで X-線結晶解析によりその構造を明らかにした⁸⁾。その後, 1983年, Itokawa らは, 同種の植物 (*Rubia cordifolia*) からボウバルジンを含む数種のオリゴペプチドを分離した⁹⁾。特に, デオキシボウバルジンメチルエーテル (RA-VII) は強い抗腫瘍性を示した。また, ボウバルジン類は, 歪みの高い14員環 isodityrosine 部分を有し, 構造的にも興味深い。以上のような理由で, Bates らをはじめ多く

の研究者により, 合成が試みられてきたが, Ullmann反応を合成ルートの中で用いる限り, ボウバルジン類の合成にこれ迄成功していない。

筆者らは, Fig.5 に示すように, L-チロシル-L-チロシン誘導体の TTN 酸化を検討したが, X=Br のときには非天然型の14員環ジフェニルエーテルが生成するのみで, 目的の化合物は得られなかった。他方, X=Cl の場合には低収率(~5%)ではあるが天然型の化合物を得た¹⁰⁾。次いで, Inaba らは常法にしたがい RA-VII の合成に成功した(Fig.6を参照)¹¹⁾。他方, 筆者らは上記非天然型の14員環ジフェニルエーテルより同様に RA-VII の異性体を合成したが, 抗腫瘍活性は全く認められなかった¹²⁾。

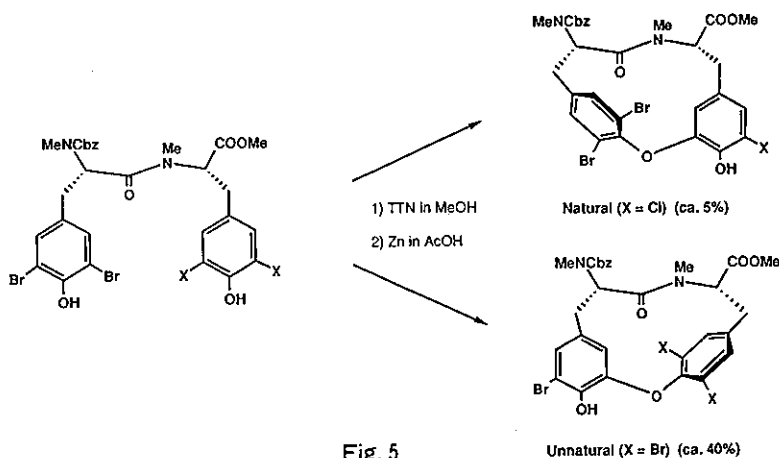


Fig. 5

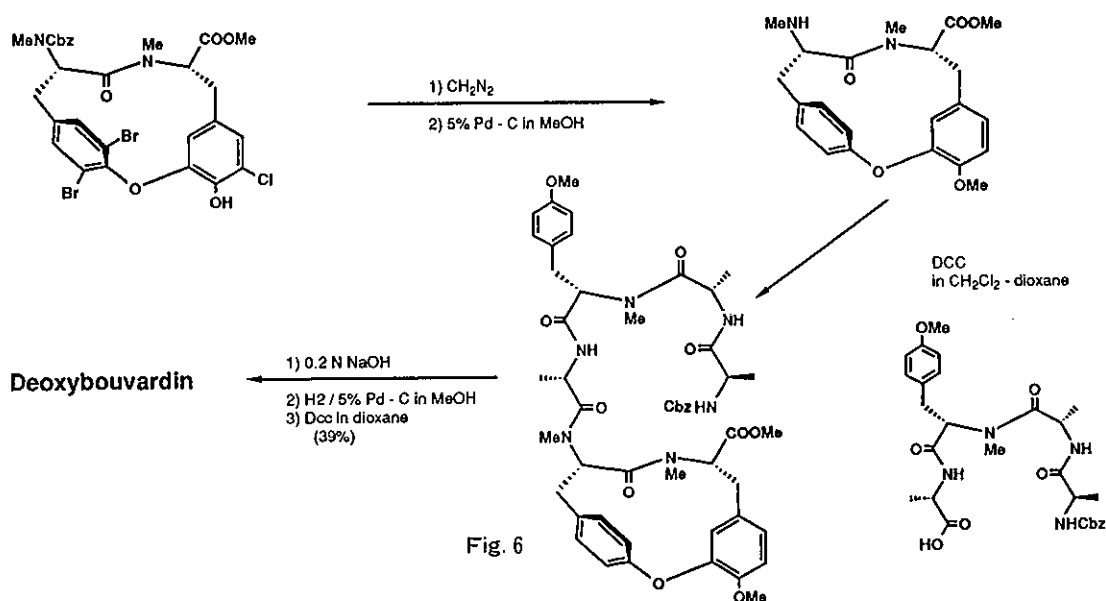


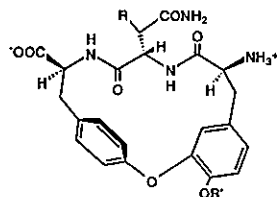
Fig. 6

5. OF 4949-IIIの合成

1986年, Sano らは, *Penicillium rugulosum* OF 4949 の産生する生理活性物質を探索し, アミノペプチダーゼ B の阻害活性を示す 4 種の代謝産物 (OF 4949-I ~ IV) を分離し (Fig.7 参照), 次いで化学反応とスペクトルデータを組み合わせて, これらの化合物の構造を明らかにした¹³⁾. OF 4949 はいずれもトリペプチドで, 分子内に isodityrosine 部分を含んでいる。

そこで, 筆者らは, Fig.8 に示す合成経路により短段階で目的とする OF 4949-III の最初の合成に成功した¹⁴⁾. なお, TTN 酸化によりジフェニルエーテルを形成する場合, 閉環方向はオルト位のハロゲン原子の種類によって決められる。

一方, Schmidt ら¹⁵⁾ 及び Evans ら¹⁶⁾ は, それぞれ独立に, Fig.9, 10 の合成経路に準じて OF 4949-III の合成を行った。出発物質は異なるが, いずれの場合にも Ullmann 反応を用いて高収率でジフェニルエーテルの合成を行っている。御承知のように, ジフェニルエーテルの合成には, Ullmann 反応が一般的に用いられているが L-チロシン誘導体同志での Ullmann 反応は, 目的のジフェニル



from *Penicillium rugulosum* OF4949

Inhibition against Aminopeptidase B. from EAC (IC₅₀)

		(μg/ml)
OF 4949 - I (R = OH, R' = Me)	0.0054	
OF 4949 - II (R = OH, R' = H)	0.0048	
OF 4949 - III (R = H, R' = Me)	3.4	
OF 4949 - IV (R = R' = H)	1.7	

Fig. 7

エーテル体を殆ど与えなかった(収率2%以下)。したがって, Fig.9, 10に見られるように, 両グループとも OF 4949-III の全合成に10数段階の反応を要している。これに対し, 筆者らの合成法は, 収率的には改良しなければならないが, より短段階でかつ OF 4949-III の生合成に適う直裁的な方法である。

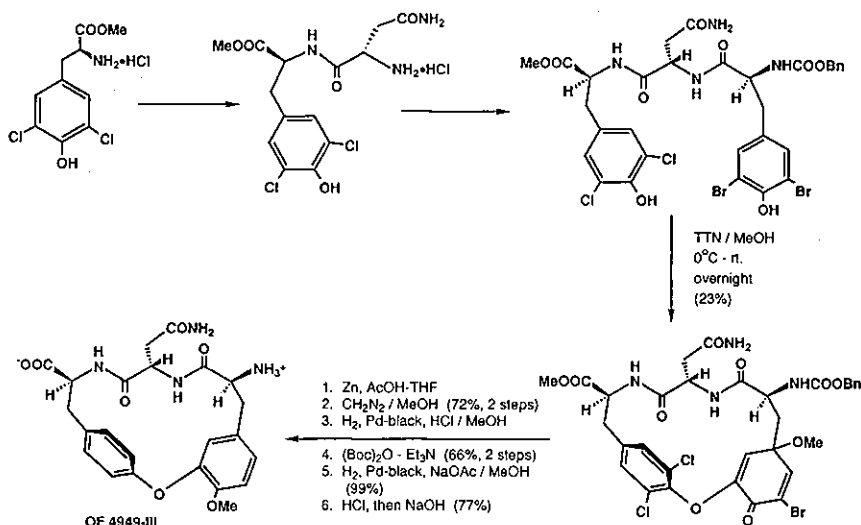
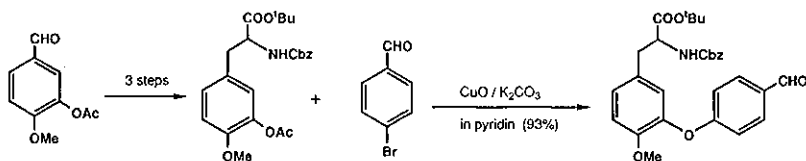


Fig. 8



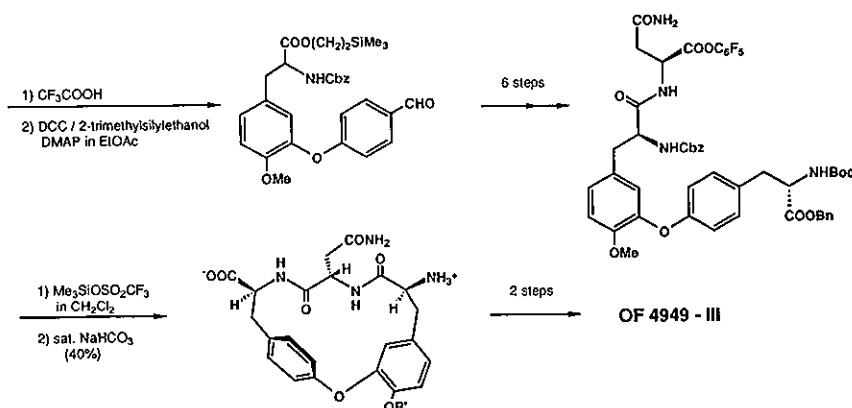


Fig. 9

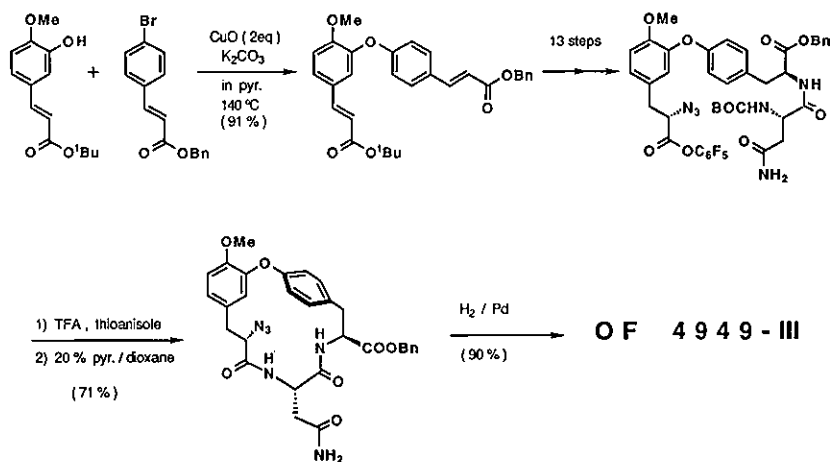


Fig. 10

6. K-13の合成

抗生物質 K-13 は, Kase, Sano らにより, *Micromonospora halophytica* Subsp. *exilis* K-13 の代謝産物として単離, 構造決定された¹⁷⁾. K-13 は, アンジオテンシン-I 転換酵素に対し顕著な阻害活性を示すことで注目されている。また, 構造的には, K-13 は前述の OF 4949-III と非常によく似たトリペプチドであるが, "isodityrosine" 部分の環化の方向が OF 4949-III に比べて逆である。さらに, Sano らによる構造研究の過程では¹⁷⁾ isodityrosine に相当する 2 個の不斉炭素の絶対立体配置が未決定であったので, K-13 の合成によりその絶対立体配置を明らかにするとともに, 種々の異性体を合成し, 後述するようにこれらの生理作用を調べた。

K-13 の合成では, 先ず, OF 4949-III の場合と同様にして, TTN 酸化の基質となるトリペプチドを合成した。ここで, 環化の方向を考慮して, 左側のベンゼン環には臭素原子を, また右側のそれには塩素原子を導入した。しかし, 実際に TTN 酸化を行ったところ, 予想に反して OF 4949-III と同じジフェニルエーテル環を与えた (Fig. 11 参照)。この理由は, 分子模型から見ると, electronic factor よりも steric factor の方が環化の方向を支配しているものと思われる。そこで, 臭素原子の代りにヨウ素原子を用いたところ, 収率的には問題はあるが, 予想通り目的の 17 員環ジフェニルエーテル体を得た。次いで, エーテル体を接触環元に付して脱ハロゲン化及び脱ベンジル化を行った後, NaOH で加水分解すると K-13 が得

られた¹⁸⁾。この結果、K-13は3個のL-チロシンより生合されることが明らかになった。最近、Evansらも同じ結論に達している¹⁶⁾。

さらに、筆者らはK-13及びOF 4949-IIIの生理作用に

興味をもち、上記の合成法に準じて4種の異性体を合成し、アンジオテンシン-I転換酵素の阻害活性を調べた。しかし、残念ながら、天然のK-13よりも優れた活性を示す化合物は得られなかった(Fig. 12)。

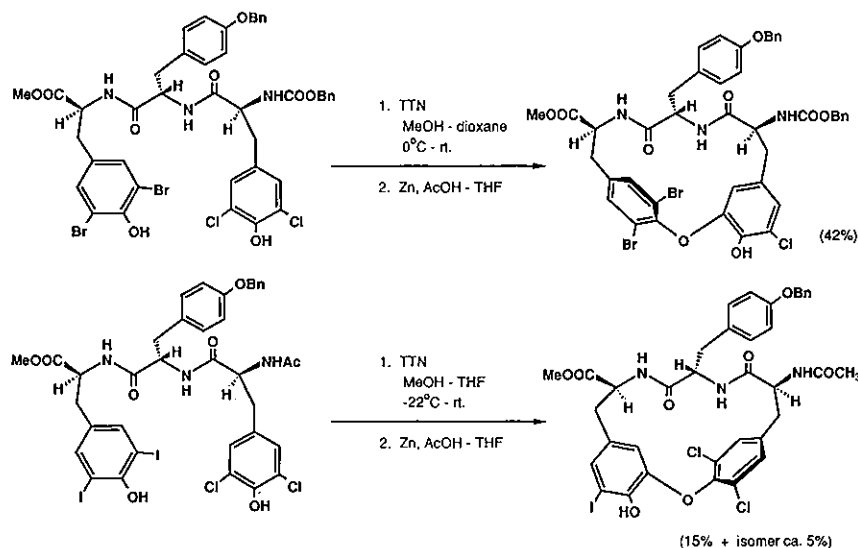
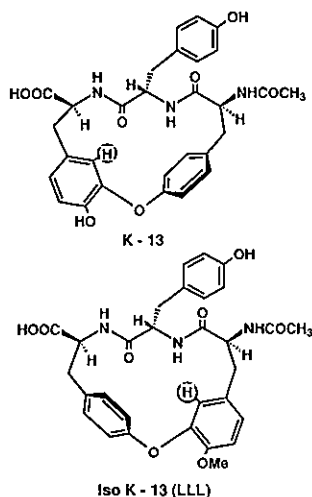


Fig. 11



Inhibitory Activity against A. C. E.

compound	IC ₅₀	δ(CDCI ₃)
K-13 (LLL)	6.3×10 ⁻⁸	6.44
(DLB)	>1 ×10 ⁻⁵	6.22
(DLL)	5.9×10 ⁻⁶	6.43
(LLD)	1.0×10 ⁻⁶	6.13
Iso K-13 (LLL)	1.3×10 ⁻⁶	5.90

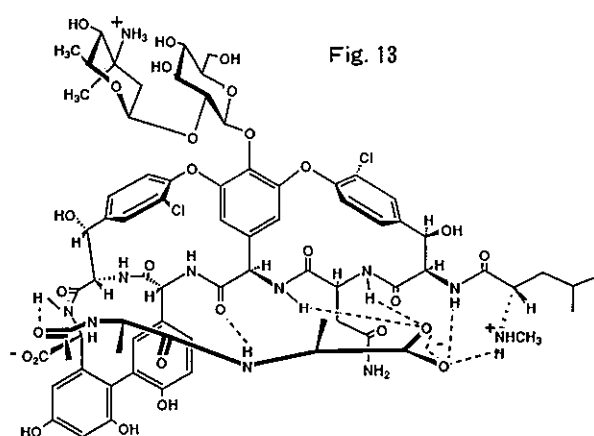
Fig. 12

7. バンコマイシン類の合成研究

バンコマイシンはリストセチンとともに、一群のグリコペプチド抗生物質の代表であり、*Streptomyces* 属の放線菌の産生する代謝産物として、1955年、McCormickらにより単離された¹⁹⁾。その後、現在においても新しいバンコマイシン類が次々と見出されている²⁰⁾。これらの化

合物は、構造的に興味があるだけでなく、生理作用の面においても、ペプチドグリカン合成に係わるトランスグリコシラーゼを阻害することが分り注目されている。また、活性発現の機構として、基質となる生合成中間体のアシル-D-アラニル-アラニン部分とバンコマイシンとが Fig. 13に示すような水素結合により複合体を形成す

ることが、Williams らの ^1H NMR実験より明らかにされた²¹⁾。このように、バンコマイシン類は新しいタイプの分子認識能をもつ化合物と見なされ、多数の化学者によってバンコマイシン類の生合成とともに、分子認識に関するモデル化合物の合成及びモデル実験が試みられている。すなわち、Hamilton らは、Fig.14に示した合成経路に準じて、バンコマイシンの活性部位に相当するモデル化合物を合成し、さらに上記モデル化合物とシアノ酢酸との相互作用が存在することを ^1H NMRを用いて証明している (Fig.15参照)²²⁾。



CARBOXYLATE BINDING POCKET OF VANCOMYCIN

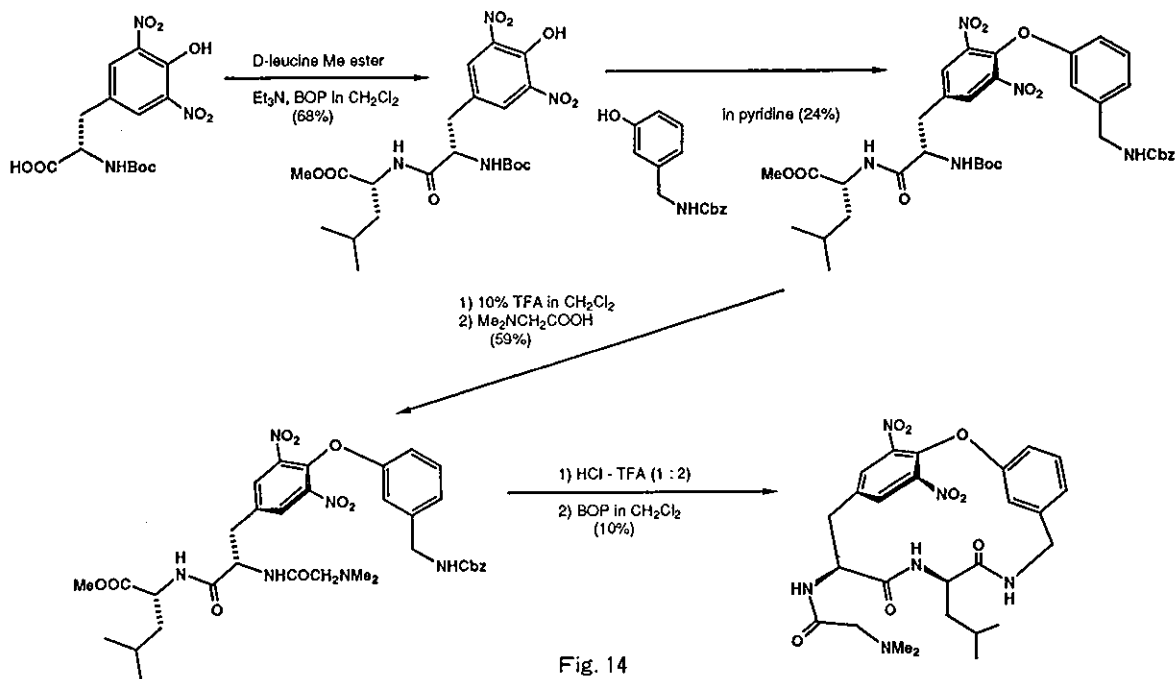
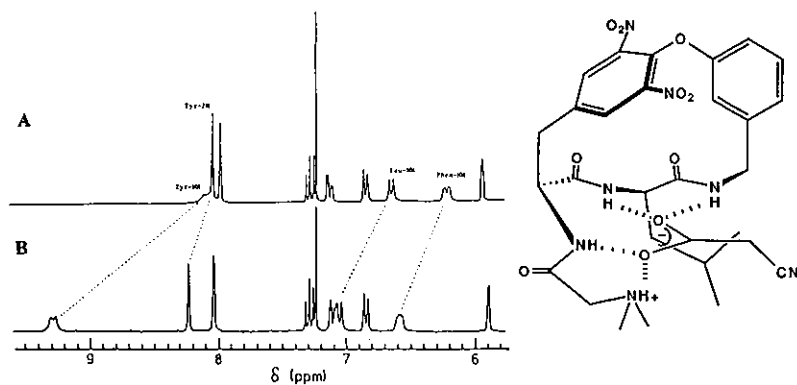


Fig. 14

一方、Still らは、バンコマイシン類の全合成に対し、これ迄知られているジフェニルエーテル合成法 (Ullmann 反応など) は適当ではないとして、Fig. 16に示すように、チオフェノールを用いてモデル実験を行っている²³⁾。しかし、彼らも述べているように、硫黄原子と酸素原子では大きな違いがあり、必ずしも良いモデルとは云い難い。

筆者らは、直接バンコマイシン類を合成する目的で、独自に開発した TTN 酸化によるジフェニルエーテル合

成法を用い、Fig.17, 18に示した実験を行った。特に、注目すべき点は、3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェニルグリシンの場合には、TTN 酸化した後亜鉛還元をしなくとも、直接目的のジフェニルエーテル環が生成することである。また、TTN 酸化の過程で、フェニルグリシン部分の不斉炭素原子のエピメリ化は全く認められなかった²⁴⁾。



A : diphenyl ether

B : a 1:1 mixture of diphenyl ether and cyanoacetic acid in CDCl₃ at 25 °C

Fig. 15

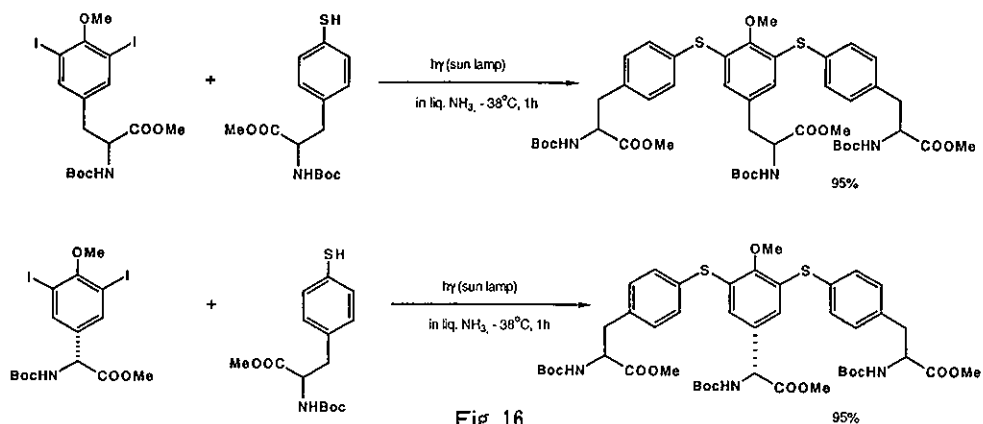


Fig. 16

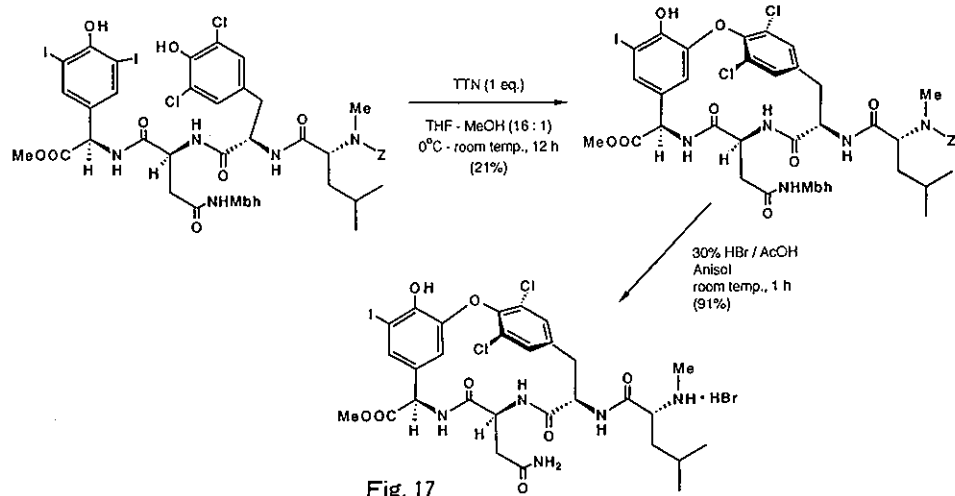


Fig. 17

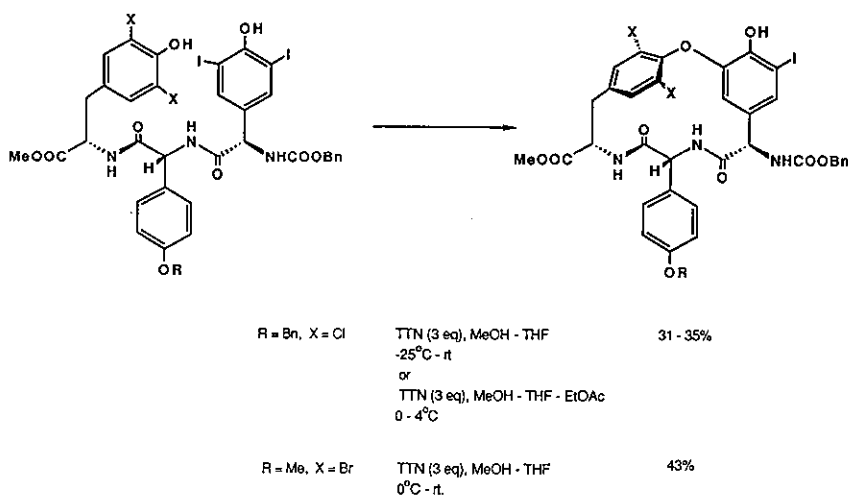


Fig. 18

8. おわりに

現在、バンコマイシン類の全合成は、多数のグループによって競われているが、全合成にはほど遠いように思われる。しかし、筆者らの開発した TTN 酸化法は、われわれに十分希望を与えてくれるように思われる。

文 献

- 1) R. Kazlauskas, R. O. Lidgard, P. T. Murphy, R. J. Wells, J. F. Blount, *Aust. J. Chem.*, **34**, 765(1981).
- 2) 西山繁, 山村庄亮, 有機合成化学協会誌, **46**, 192(1988).
- 3) H. Noda, M. Niwa, Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 3247(1981).
- 4) S. Nishiyama, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **23**, 1281(1982); S. Nishiyama, T. Suzuki, S. Yamamura, *ibid.*, **23**, 3699(1982); *Chem. Lett.*, **1982**, 1851.
- 5) S. Tamai, M. Kaneda, S. Nakamura, *J. Antibiot.*, **35**, 1130(1982).
- 6) M. Kaneda, S. Tamai, S. Nakamura, T. Hirata, Y. Kushi, T. Suga, *J. Antibiot.*, **35**, 1137(1982).
- 7) S. Nishiyama, K. Nakamura, Y. Suzuki, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4481(1986).
- 8) S. D. Jolad, J. J. Hoffmann, S. J. Torrance, R. M. Wiedhopf, J. R. Cole, S. K. Arora, R. B. Bates, R. L. (Torgiulo, G. R. Kriek, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 8040(1977).
- 9) H. Itokawa, K. Takeya, K. Mihara, N. Mori, T. Hamanaka, T. Sonobe, Y. Iitaka, *Chem., Pharm. Bull.*, **31**, 1424(1983).
- 10) 山村庄亮, 西山繁, 井上昂, 梅沢勲, 湯浅雅之, 稲葉隆之, 日特開(1986).
- 11) T. Inaba, I. Umezawa, M. Yuasa, T. Inoue, S. Mihashi, H. Itokawa, K. Ogura, *J. Org. Chem.*, **52**, 2957(1987).
- 12) 西山繁, 中村和彦, 山村庄亮, 未発表.
- 13) S. Sano, K. Ikai, H. Kuroda, T. Nakamura, A. Obayashi, Y. Ezure, H. Enomoto, *J. Antibiot.*, **39**, 1674(1986); S. Sone, K. Ikai, K. Katayama, K. Takesako, T. Nakamura, A. Obayashi, Y. Ezure, H. Enomoto, *ibid.*, **39**, 1685(1986).
- 14) S. Nishiyama, Y. Suzuki, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **29**, 559(1988).
- 15) U. Schmidt, D. Weller, A. Holder, A. Lieberknecht, *ibid.*, **29**, 3227(1988).
- 16) D. A. Evans, J. A. Ellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 1063(1989).
- 17) H. Kase, M. Kaneko, K. Yamada, *J. Antibiot.*, **40**, 450(1987); T. Yasuzawa, K. Shirahata, H. Sano, *ibid.*, **40**, 455(1987).
- 18) S. Nishiyama, Y. Suzuki, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 379(1989).
- 19) M. H. McCormick, *Antibiot. Annu.*, **1955-56**, 606.
- 20) R. Nagarajan, K. E. Merkel, K. H. Michel, H. M. Higgins, M. M. Hoehn, A. H. Hunt, N. D. Jones, J. L. Occolowitz, A. A. Schabel, J. K. Swartzendruber, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 7896(1988).
- 21) M. P. Williamson, D. H. Williams, S. J. Hammond, *Tetrahedron*, **40**, 569(1984); J. P. Waltho, J. Cavanagh, D. H. Williams, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1988**, 707.
- 22) N. Pant, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 2002(1988).
- 23) D. W. Hobbs, W. C. Still, *Tetrahedron Lett.*, **28**, 2805(1987).
- 24) 西山繁, 鈴木良一, 山村庄亮, 発表予定.

味覚修飾物質をめぐる最近の話題

横浜国立大学教育学部 教授 理学博士 栗原良枝

はじめに

筆者は、以前(1985年1号)このケミカルタイムスに“味を変える物質 Taste modifiers”と題して小文を書いた。当時は、横浜国大平塚農場で育成しているミラクルフルーツの木にやっと花が咲いたときだったので、日本で初めてみるミラクルフルーツの花に感激し、ケミカルニュースにはその写真を掲載した。あれから4年、ミラクルフルーツの木も大きく成長し、また、試料が自由に手に入るようになったお陰で、ミラクリンに関する研究も大きく進展した。また、甘味抑制物質であるギムネマ酸やジジフィンの構造も決定することができた。本稿では、筆者らの研究を中心に味覚修飾物質 Taste modifiers に関する最近の話題を紹介しようと思う。

1. ミラクリン (ミラクルフルーツ中に存在するすっぱいものを甘くする糖蛋白質)

以前に紹介したように、ミラクルフルーツを口に含んでからすっぱいもの(例えばレモン)を味わうと、甘く感じる。この有効成分はミラクリンと呼ばれる糖蛋白質であり、そのユニークな性質のためこれまで多くの研究者によって関心がもたれてきた。ミラクルフルーツの木は、もともと西アフリカ原産であるが、先に述べたように、横浜国大平塚農場の温室では、現在大小4000株位のミラクルフルーツの木が育っている。これらは、フロリダ州立大学 Beidler 教授から送られた10数粒の種子を、本学麻生武夫教授が丹誠こめて育てた一世、二世、三世の木である。一番大きい木は、180 cm 位にもなり、11月と3月に年2回実をつける。筆者は昨秋中国雲南省にある中国科学院シーサンパンナ(西双版纳)熱帯植物園を訪れた際、地植えで3 m 位に見事に育っているミラクルフルーツの木をまのあたりにしてきた。我々の木がこの大きさになるには年月を必要とすると思われるが、現在でも研究に必要な数の実は十分提供してくれる。

(i) ミラクリンの抽出および精製法の確立¹⁾

従来、ミラクリンは、pH 10程度のアルカリ溶液で行

われてきた。このため、抽出液は着色し、その後の精製でこの着色物質を除くのが著しく困難であった。また、アルカリ抽出は活性低下の原因にもなった。我々は、図1に示すように中性条件下でミラクリンを可溶化し、精製する方法を見いだした。まず、種子と皮を除き果肉を凍結乾燥した試料をよく水で洗浄し、タンニン分を取り除いた後、0.5M 食塩水で抽出する。その後、硫酸分画、イオン交換カラムクロマトグラフィーにより精製する(図2)。得られたミラクリンは、SDS-PAGEにより一本のバンドを示すこと、および逆相 HPLC により一本のピークを示すことなどから、純品であることを確認した(図3)。

図1. ミラクリンの抽出・精製方法

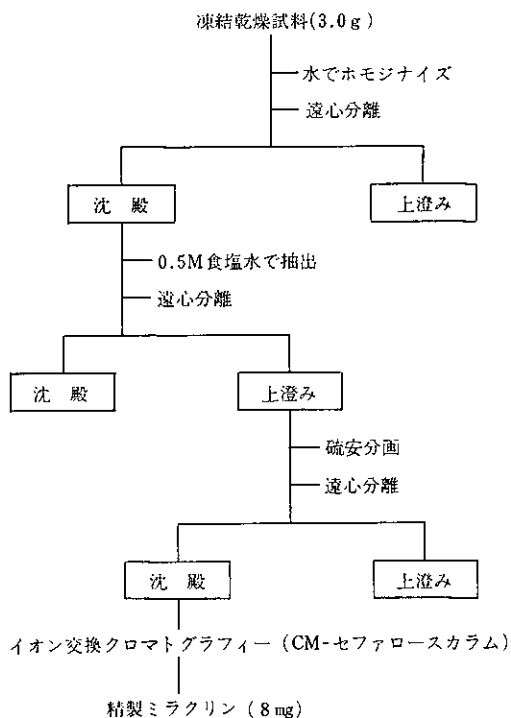


図2. CM-セファロースカラムによるミラクリンの分画。ピークBに強い活性が認められた。

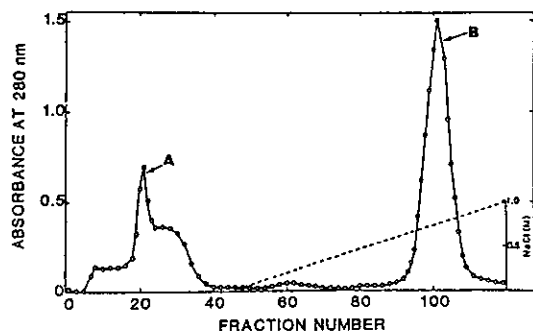
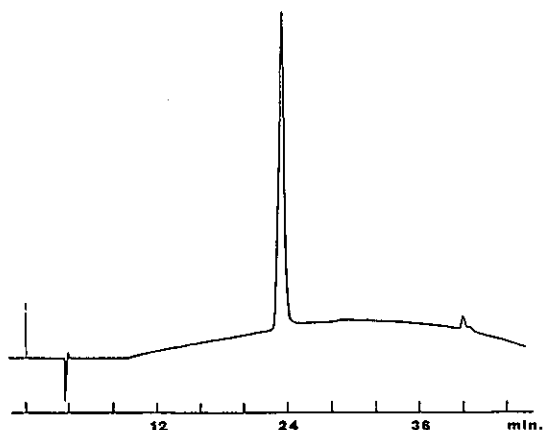


図3. 精製ミラクリンのHPLC溶出パターン



カラム TSK gel TMS-250 (4.6mm×7.5 cm)

溶離液 A : 20% CH₃CN in 0.05% TFA

B : 70% CH₃CN in 0.05% TFA

A → B リニアグラジェント

流速 1 ml/1 min

検出 UV (210 nm)

(ii) ミラクリンの全一次構造の決定²⁾

精製したミラクリンを用いて、ミラクリンのアミノ酸配列順序の決定を行った。まず、S-カルボキシアミドメチル化したミラクリンを用いて、N末端から46番目までのアミノ酸配列を自動アミノ酸シーケンサー (Applied Biosystem Protein Sequencer, model 470 A) により決定した。

次に, lysyl endopeptidase, TLCK-chymotrypsin, V8-protease 等を用いて、ミラクリン分子の切断を行なった。生成したペプチドを HPLC で分画し、各ペプチドをアミノ酸シーケンサーにかけた。また各ペプチドのアミノ酸組成を測定し、アミノ酸シーケンサーで得られた結果の確認を行った。このようにして各蛋白質分解酵素で切断されたペプチド構造およびこれらのペプチド構造をもとにミラクリンの全一次構造を決定した(図4)。図に示すように、ミラクリンは191箇のアミノ酸からなる一本のポリペプチド鎖から構成されている。また、ミラクリンは、14%の糖を含んでおり、2本の糖鎖が存在する。これらは、N末端より42番目および186番目のアスパラギン残基と結合している。ミラクリンのアミノ酸配列および糖含量から、ミラクリンの分子量は24,600と計算された。従来報告されたミラクリンの分子量は44,000~48,000であったが、これらの試料は、いずれもアルカリ性条件下で抽出したものであり、他のタンパク質と複合体を形成していたものと思われる。

ミラクリンのアミノ酸配列順序を他の蛋白質のそれと比較したところ、大豆トリプシンインヒビターのアミノ酸配列順序と相同性があることがわかった(表1)。表1からわかるように143番目から187番目までは51%の相同性が、7番目から61番目までは36%の相同性がみられた。大豆トリプシンインヒビターとミラクリンは、ともに植物由来の分子量2万前後の蛋白質であり、進化のどの段階で相同性をもつようになったか興味深いところである。

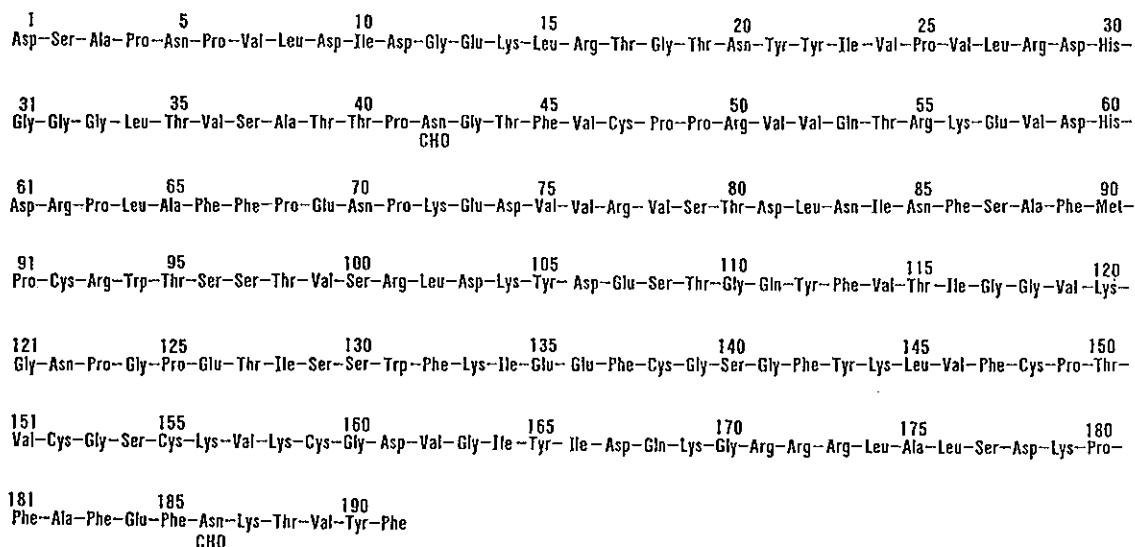
表1. ミラクリンと大豆トリプシンインヒビターとの間のアミノ酸配列順序の相同性

ミラクリン	10	20	30	40	50	60
	Y L D I G E K L R T G T N Y I Y P Y L R D H G G L T V S A I T P N G T F Y C P P R V V Q T R K E Y D H D					
大豆トリプシンインヒビター	Y L D N E G N P L E N G G T Y I L S D I A F G G - I R A A P I G N E - R - - C P L T V V Q S R N E L D K G					
	10	20	30	40	50	60
ミラクリン	150	160	170	180		
	Y K L V F C P T Y C G S C K Y K C G D V G I Y I D K - G R R L A L S - D K P F A F E F H K					
大豆トリプシンインヒビター	Y K L V F C P Q Q - A E - D D K C G D I G I S I D H D D G T R R L V V S K N K P L V V Q F Q K					
	140	150	160	170		

PERCENT MATCH = 36.4% (20/55) (N末端)

PERCENT MATCH = 51.1% (24/47) (C末端)

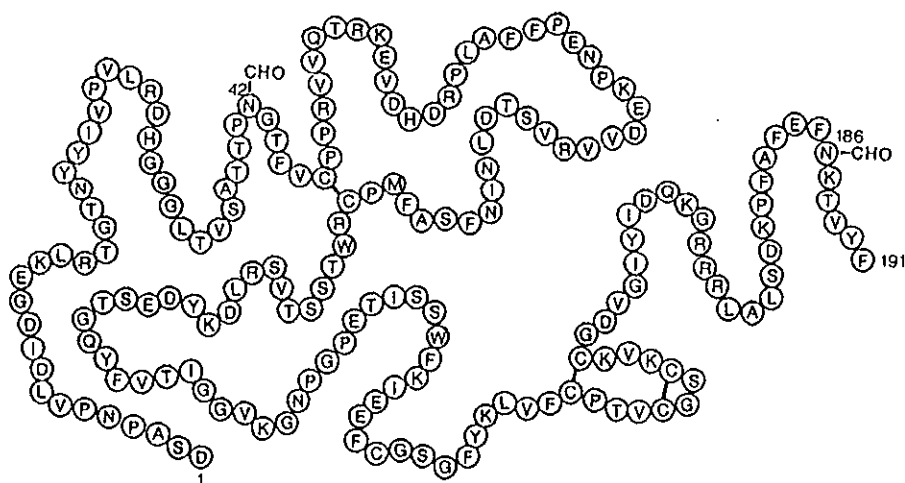
図4. ミラクリンの全一次構造

(iii) ミラクリンのジスルフィド結合位置³⁾

ミラクリン分子の一次構造決定の結果、7つのシステイン残基が存在することが確認されたので、さらに、ジスルフィド結合の位置を知るために、サーモリシンによる断片化を行い、3種類のシステインペプチドを単離した。これらのシステインペプチドをジチオスレイトールにより還元後、S-カルボキシアミドメチル化し、それぞれ二

つのS-カルボキシアミドメチル化ペプチドを分画した。これらのペプチドのアミノ酸配列を調べ、ジスルフィド結合位置を決定した。この結果、47-92、148-159および152-155がS-S結合を形成していることを確認した。図5は、以上の結果をまとめたミラクリン分子の構造である。

図5. ミラクリンの構造



(iv) ミラクリンの糖組成¹⁾ および糖鎖構造⁴⁾

ミラクリンを2.5 M トリフルオロ酢酸を用いて加水分解した後、HPLCにより単糖分析した。この結果、ミラクリンにはグルコサミン、マンノース、ガラクトース、キシロース、フコースがそれぞれ3.03, 3.00, 0.69, 2.12, 0.96 のモル比で含まれていることが確認された。さらに糖鎖はキシロースを含む複合型糖鎖構造をしていることが明らかになった。図6に主な糖鎖構造を示した。(V) ミラクリンの生合成時期の決定⁵⁾

精製したミラクリンをウサギに注射し、ミラクリン抗体を作成した。この抗体を用いた酵素免疫法により、ミラクリンの定量法を確立した。図7は、この方法によるミラクリン定量のための標準曲線を示している。図から

わかるように、この方法により2-200 ng/ml のミラクリンを正確に定量出来る。

ミラクリンの定量法を用いて、ミラクルフルーツの成熟過程のどの時期にミラクリンが生合成されるかを検討した。受粉後4週間から7週間までの間には、ミラクリンはほとんど生成されないが、8週目になると劇的にミラクリンの生成が行われる(図8)。

現在ミラクリンのcDNAをクローニングすることを検討している。このためには、まずミラクルフルーツからmRNAを抽出することが必要である。図8の結果はミラクリンのmRNAが受粉後7週目から8週目にかけ急速に作られることを示しており、ミラクリンの遺伝子を決定する研究に有用な知見を提供した。

図6. ミラクリンの糖鎖構造

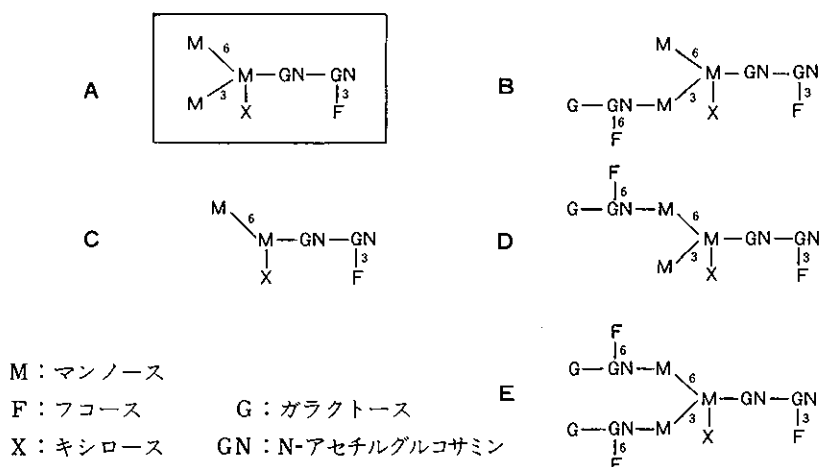


図7. 酵素免疫法によるミラクリン定量のための標準曲線

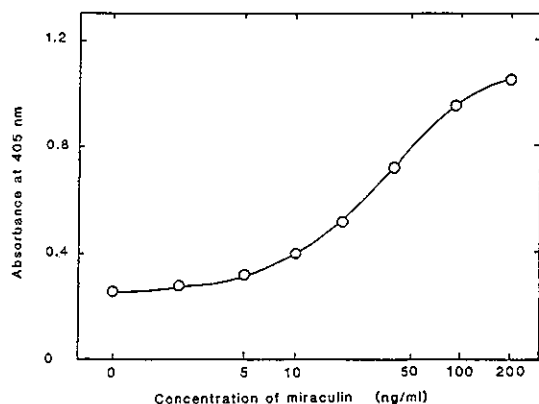
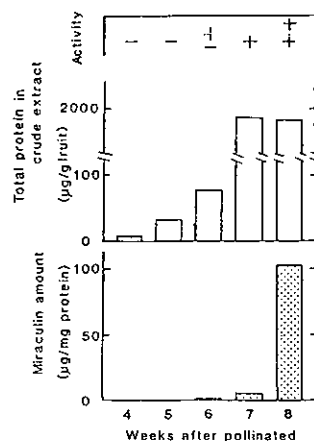


図8. 受粉後各週におけるミラクリンの合成時期



2. クルクリン⁶⁾

東南アジアに野生するキンバイザサ科の植物 *Curculigo latifolia* は、ラッキョウのような実をつける(図9)。この実を口に含むと甘い味がするが、甘味はすぐに消失する。つぎに水を味うと、甘く感じる。紅茶を飲むと、砂糖なしで甘くなる。ビールは、あの苦味が嫌いな私にもおいしく飲めるようになる。またミラクリンと同じように、すっぱいものを味うと、水よりもさらに甘く感じる。このように、*Curculigo latifolia* の実は非常に興味ある成分を含んでいるにもかかわらず、従来この成分に関する研究は全く行われていなかった。我々は、この実の有効成分をクルクリン (Curculin) と命名し、クルクリンの精製および作用機構を検討した。

(i) クルクリンとミラクリンの性質の比較

クルクリンの精製等についての詳細は次の機会にゆず



図9. *Curculigo latifolia* の実

ることにするが、表2にクルクリンとミラクリンの性質を比較して示した。ゲルろ過法により決定したクルクリンの分子量は、24,000であったが、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法では13,000であった、このことは、クルクリンは分子量13,000のポリペプチドの2量体で存在していることを示している。ミラクリンは糖蛋白質であるのに対し、クルクリンは糖を含まない。ミラクリンの等電点は、9.2-9.5であるのに対し、クルクリンのそれは7.1である。ミラクリンは、それ自身味を有しないが、クルクリンは甘味を呈する。両蛋白質とも、酸により強い甘味が誘導される。活性持続時間は、ミラクリンの場合約2時間であったが、クルクリンのそれは約30分であった。ミラクリンには水を甘くする作用はないが、クルクリン

は水を甘くする作用を有する。

以上のようにクルクリンとミラクリンには、共通してすっぱいものを甘くする作用を有するが、ミラクリンの抗体はクルクリンと交叉反応を示さなかった。

表2. クルクリンとミラクリンの性質の比較

	ミラクリン	クルクリン
分子量	24,600	24,000(二量体) 13,000(単量体)
糖含量	13.9 g	—
等電点	9.3	7.1
味	無味	甘味
甘味誘導効果		
水	—	甘味
酸	甘味	甘味
保持時間	2時間	30分
室温における安定性	不安定	安定

(ii) クルクリンの作用機構

クルクリンそれ自身は甘味を有するが、しばらくすると甘味を感じなくなる。これは、唾液中の成分が甘味を抑制するためと推測された。そこで、唾液中に含まれている諸成分のうち、Ca イオンおよび Mg イオンの効果を調べた。1 mM CaCl_2 溶液または 1 mM MgCl_2 に溶かしたクルクリンは、全く甘味を示さなかった。

以上のようなクルクリンの作用は、次のように説明することができる。クルクリンは、舌表面の味細胞の甘味受容体それ自身または近傍に結合する。この結合は比較的強固で、クルクリンは容易には脱離しない。クルクリンの活性中心は、甘味受容サイトに結合することによって甘味を誘導する。しばらくすると、唾液が分泌され、唾液中の Ca イオンまたは Mg イオンの作用によりクルクリンの活性中心が甘味受容サイトに結合できなくなる。このとき水を味うと、唾液が洗い流され 2 価陽イオンが除かれる。このためクルクリンの活性中心は、再び甘味受容サイトに結合できるようになる。すなわち、水を甘く感じる。一方、酸を口に含むと、クルクリンの立体構造または味受容膜のコンホメーションが変化し、クルクリンの活性中心はより強固に甘味受容サイトに結合する。このため、酸により強い甘味が誘導される。

以上のように、ミラクリンやクルクリンは、すっぱいものや水自身を甘くするという極めてユニークな作用を有することで興味がもたれているが、またカロリーの新しいタイプの甘味剤としても注目されている。

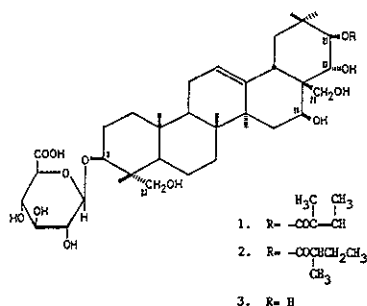
3. ギムネマ酸⁷⁾

ギムネマ酸は、インド産のガガイモ科の植物 *Gymnema sylvestre* の葉に含まれているトリテルペン配糖体で、甘味のみを選択的に抑制する作用を有する。また腸からの糖の吸収を遅延させるという効果があるため、最近では糖尿病患者が食事をする際の急激な血糖値上昇を抑える物質として注目されている。

ギムネマ酸は、1967年に Stöcklin らによってアグリコンの水酸基がアシル化されているトリテルペンのグルクロン酸配糖体であること、アシル基の位置と数によって多数の同族体があることが報告された。しかし、彼らの用いた試料が純品でなかったため、最終的な構造は確定されなかった。

最近我々は、多数のギムネマ酸同族体の中から強い甘味抑制作用を示す2種類のギムネマ酸(1)および(2)を単離した。この試料を用いて、ギムネマ酸(1)および(2)の構造を決定した(図10)。これによると、ギムネマ酸(1)および(2)は、アグリコン部分の21位の水酸基のみがそれ

図10. ギムネマ酸の構造



ぞれチグリン酸、2-メチル酪酸でエステル化されている。すなわち、(1)および(2)の構造の違いは、アシル基に存在する二重結合の有無のみである。(1)の1 mM溶液は0.2 M ショ糖溶液の甘味を抑制し、(2)の同濃度溶液は0.4 M ショ糖の甘味を抑制した。このことは、アシル基の構造の違いが甘味抑制効果に関与することを示唆している。さらに、加水分解してエステル基をはずすと(化合物(3))、効果がなくなることが明らかになった。

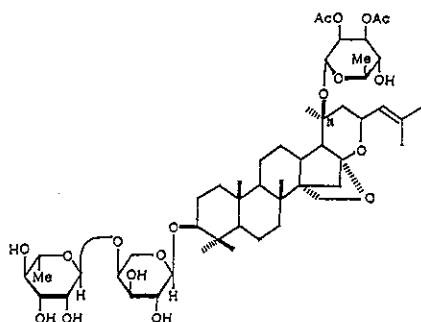
4. ジジフィン⁸⁾

ジジフィンは、*Ziziphus jujuba* (クロウメモドキ科、日本名ナツメ) の葉に含まれる甘味抑制物質である。最近我々は、その精製法を確立し、化学構造を決定した。図11に示すように、ジジフィンはジュジュボゲニンをアグリコンとするトリテルペン配糖体であり、糖の水酸基

が2箇所だけアセチル化されている。

ジジフィンを温和な条件で加水分解しアセチル基だけを取り除いた化合物は、全く甘味抑制効果を示さない。このことは、先のギムネマ酸の21位のエステル基をはずした化合物が活性をもたないことと類似の知見であり、興味深い。

図11. ジジフィンの構造



ジジフィンは塩味、酸味、苦味に対しては全く影響を与えず、甘味のみを選択的に抑制する。さらにジジフィンは、ショ糖、ブドウ糖、果糖、スヒビオシド、デヒドロカルコンなど、試みたすべての甘味物質の甘味を抑制した。最近では、甘味のレセプターは1種類ではなく複数存在するといわれているので、ジジフィンがすべての甘味を抑制することが何を意味するか興味ぶかいところである。

おわりに

ここで紹介した物質は、いずれも植物由来の天然物である。*Gymnema sylvestre* の葉は、インドで長年糖尿病の患者に有効であるとして民間で用いられてきた。ミラクルフルーツは、アフリカで発酵したすっぱいパンや、ヤシ酒に甘味をつけるために使われてきた。こうした長年の経験から、これらの物質が人体に無害であることが立証されてきた。我々は味覚修飾という作用に焦点をしばっている天然物を取り扱ってきたが、このささやかな経験からも自然界にはなんと不思議な作用を有する物質が存在するものかと、いつも感心させられる。生物が作りだした巧みな作用を有する物質の構造と活性の秘密を明らかにすることにより、さらに優れた機能を持つ有用な物質が合成されることを期待している。

文 献

- 1) S. Theerasilp and Y. Kurihara, Complete purification and

- characterization of the taste-modifying protein, miraculin, from miracle fruit, *J. Biol. Chem.* 263, 11536-11539(1988).
- 2) S. Theerasilp, H. Hitotsuya, S. Nakajo, K. Nakaya, Y. Nakamura and Y. Kurihara, Complete amino acid sequence and structure characterization of taste-modifying protein, miraculin, from miracle fruit, *J. Biol. Chem.*, 264, (1989), 6655-6659.
 - 3) 井桁寛・中谷一泰・中村泰治・栗原良枝(準備中).
 - 4) 一つ谷宙生・栗原良枝, 半沢宏之・荒田洋治, 高橋禮子, 第61回日本生化学大会講演抄録 p. 689 (1988).
 - 5) S. Nakajo, S. Theerasilp, K. Nakaya, Y. Nakamura and Y. Kurihara, A quantitative enzyme immunoassay for miraculin in *Richadella dulcifica* (miracle fruit). *Chemical Senses* 13, 663-669(1988).
 - 6) S. Theerasilp, H. Yamashita and Y. Kurihara, Purification and structure characterization of a new type of sweet protein having taste-modifying action, curculin; submitted to *J. Biol. Chem.*
 - 7) M. Maeda, T. Iwashita and Y. Kurihara, Purification and chemical structure of gymnemic acids, *Tetrahedron Lett.*, 30, 1547-1550(1989).
 - 8) Y. Kurihara, K. Ookubo, H. Tasaki, H. Kodama, Y. Akiyama, A. Yagi and B. P. Halpern, Studies on the taste modifiers. I. Purification and structure determination of sweetness inhibiting substance in leaves of *Ziziphus jujuba*, *Tetrahedron* 44, 61-66(1988).

生体中に存在する常量必須元素の機能(II)

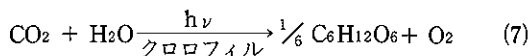
関西大学工学部 教養化学教授 工学博士 今井 弘

5. マグネシウム, カルシウムの生理作用と輸送

この両元素は Mg^{2+} , Ca^{2+} として海洋や土壌中に広く分布している。これらは Na^+ や K^+ と同じように、細胞膜を通して細胞内外へ移動し、生体内で種々の生理作用を営んでいる。

5.1 Mg^{2+} の生理作用

緑色植物や藻類が吸収した光のエネルギーを利用して二酸化炭素と水からグルコースを作るときの触媒になる光合成色素タンパク質, すなわちクロロフィル(chlorophyll)は Mg^{2+} 錯体である。



Mg^{2+} は図4に示したように、ポルフィリン環の中心に位置している。 Mg^{2+} が不足すると、クロロフィルも欠乏するので、光合成反応は十分に進まなくなり、葉が黄変する。したがって、植物は常に Mg^{2+} を必要とする。このように、クロロフィルは集光機能や吸収した光エネルギーを化学エネルギーに変換する能力をもっている。

動物体において、 Mg^{2+} は4番目に多い元素である。

生体内に存在する Mg^{2+} の半分以上は Ca^{2+} とともにリン酸塩となって骨格中に存在している。ついで多いのが血液中的である。血清中の Mg^{2+} の約80%は単イオンとして存在している。心臓疾患の患者の血清中に含まれている Mg^{2+} と Ca^{2+} の量を調べた結果によると、 Ca^{2+}/Mg^{2+} の比が3以上になると、死亡率が高くなるということから、 Mg^{2+} の不足は心臓疾患や脳卒中になる危険性が指摘されている。また、 Mg^{2+} が不足すると、神経過敏、興奮、不整脈がみられ、硬直性痙攣症にもなる。したがって、動物体も多量の Mg^{2+} を必要とし、生命維持のために不可欠な元素である。

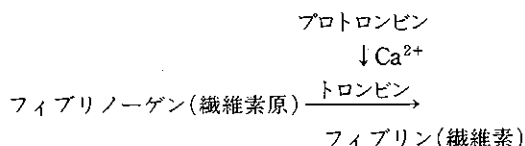
一方、 Mg^{2+} は細胞内にも多量存在していて、 Mg^{2+} -リン酸錯体になっているものと考えられている。細胞内には多種類の酵素が存在しているが、これらのなかにはほとんど活性を示さないか、またはわずかに活性を示す酵素がある。しかし、 Mg^{2+} の存在によっていちじるしく酵素活性を発揮する酵素がある。いわば、 Mg^{2+} は酵素反応における補因子(補助因子または共同因子ともいう)としての挙動を示す。

ホルモン、ビタミンD、カルシトン、カルセクエストリンなどがある。

Ca^{2+} も Mg^{2+} と同じように、細胞内外において種々のタンパク質と結合し、生化学反応における触媒としての作用をもっている。

5.2.1 細胞外での作用。 Ca^{2+} は乳汁分泌の促進や細胞間の接着作用^{*1}、また心臓の活動を刺激する作用をもつほかに、消化酵素や血液凝固に関与する酵素などを活性化する役目もある。

たとえば、血液凝固作用に関与するプロトロンビン(トロンビンの前駆物質)は Ca^{2+} によって活性化され、トロンビンに分解される。このトロンビンはフィブリノーゲン(血漿中に存在する血液凝固因子で、分子量約34万の糖タンパク質)に作用して特定の箇所を加水分解させてフィブリンに転換させる。



フィブリン網が形成されると、血液全体がゲル化し、凝固する。

5.2.2 細胞内での作用。 ATP合成の役割をもつミトコンドリアにエネルギーが供給されると、濃度勾配にさからって細胞質から Ca^{2+} を取り込むので⁴⁻⁶⁾、 Ca^{2+} の貯蔵場所であるといわれている⁷⁾。ミトコンドリア中に存在する Ca^{2+} はタンパク質を構成しているアスパラギン酸(Asp)やグルタミン酸(Glu)のカルボキシル酸素に配位して、六配位八面体型になっている。ここで、おもなカルシウム結合性タンパク質(calcium-binding protein)を以下にあげる。

(1) パルブアルブミン(parvalbumin)。これは魚類、爬虫類、両棲類などの筋肉中に存在する。分子量は約12000で、2個の Ca^{2+} をもっている。それぞれの Ca^{2+} は図5のように、カルボキシル酸素に配位している。

この Ca^{2+} 含有タンパク質の生体内における役割はよくわかっていない。

(2) トロポニン(troponin)。これは脊椎動物の横紋筋中に存在し、分子量は75000の三量体で、4つの Ca^{2+} をもっている。pKaは5.5~7.5の範囲内にある。 Ca^{2+} はおもに Glu, Asp のカルボキシル酸素に配位している。このほかに、35-Ser, 67-Ser のヒドロキシ酸素, 104-Asp

のアミド酸素にも配位しているといわれている。

トロポニンはトロポミオシンと1:1で強く結合して複合体を形成し、横紋筋の収縮反応を制御している。

(3) ブドウ球菌ヌクレアーゼ(staphylococcal nuclease)。

Ca^{2+} は43-Glu, 19-Asp, 21-Asp, 40-Aspのカルボキシル酸素, 41-Thrのカルボニル酸素, さらに6番目の配位座に水分子の酸素が配位しているものと考えられている。

これはDNAやRNAを3'-モノヌクレオチドに加水分解する酵素である。

(4) サーモリシン(thermolysin)。これは分子量約38000の中性プロテアーゼ(ペプチド結合を加水分解させるときの触媒となる酵素の総称名で、タンパク質分解酵素である)で、4つの Ca^{2+} と1つの Zn^{2+} をもっている。この酵素は熱に対して安定であるが、 Ca^{2+} を除くと、不安定になる。 Ca^{2+} はこの酵素の構造維持に役立っている。

(5) コンカナバリンA(concanavalin A, Con A)。サブユニット^{*2}の分子量は約25000である。生物学的機能は糖と結合することにある。これは Ca^{2+} のほかに、 Mn^{2+} とも配位して高次構造を保っている。

(6) カルモジュリン(calmodulin)。これは分子量約16000のタンパク質で、生体内の全組織中に存在している。細胞内では Ca^{2+} の受容体として働き、細胞の機能を調節する役割をもつものと考えられている。

以上のほかに、 Ca^{2+} がもっている重要な機能に筋の収縮と弛緩がある。これには Ca^{2+} のほかに Na^{+} も関与している。

神経細胞(ニューロン, neuron)に刺激が伝わると、細胞膜中に存在するある種のタンパク高分子物質によってイオンチャンネル機構が働いて膜透過性が変わり、 Na^{+} は濃度の高い細胞外から濃度の低い細胞内へ受動輸送される。その結果、細胞内外の濃度差による活動電位(60~100mVといわれている)が生じる。この活動電位が電気信号として隣接する神経細胞間の接合部(これをシナプスという)に伝達^{*3}されると、電位低下がおこり、刺激がつぎの神経細胞に伝えられる(この場合、電気シナプス)。一方、 Na^{+} の濃度が通常よりも高くなった細胞内では、 Na^{+} , K^{+} -ポンプが働いて余分の Na^{+} は細胞外へ能動輸送される。このような過程で、刺激がつぎつぎと神経細胞へ伝達され、ついに神経末端に達すると(この伝達の速さは70~80m/sであるといわれている)、神経伝達物質^{*4}であるアセチルコリンなどを放出し、これが神経細胞と筋細胞のシナプスに達す

*1 接着作用を営んでいるのは、カドヘリンという Ca^{2+} 含有タンパク質である。

*2 一つの生体高分子物質などの機能発現単位が非共有結合で会合して、複数個の構成成分からできているものをいう

*3 シナプス伝達には、電気信号を介する電気シナプスと、神経伝達物質を介する化学シナプスとがある。

*4 神経伝達物質にはアセチルコリンのほかに、カテコールアミン類、アミノ酸、さらに各種ペプチドを含めると、40種類以上知られている。

ると(この場合、化学シナプス)、筋細胞は興奮して、活動電位が生じる。これが細胞内の筋原繊維をとりまく筋小胞体^{*5}を刺激する。その結果、筋小胞体膜のカルシウムチャンネルのゲートが開き、筋小胞体内でカルセクエストリン^{*6}と結合して蓄えられていた Ca^{2+} は遊離して筋細胞質中へ放出される(細胞質中の Ca^{2+} 濃度は 10^{-8} M から 10^{-5} M に増加する)。放出された Ca^{2+} はトロポミオシンと結合し、これが引き金になって筋収縮が起こる(図6a)。

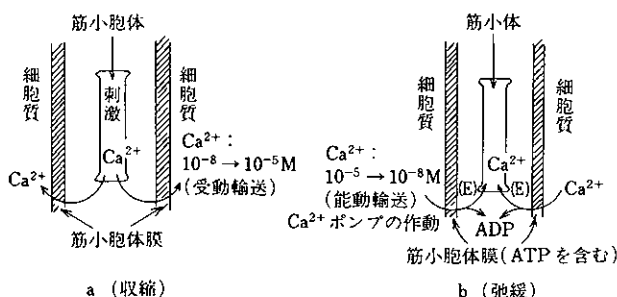


図6. 筋の収縮と弛緩

つぎに、筋細胞質にある Ca^{2+} は小胞体膜中に存在する Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase による Ca^{2+} -ポンプの働きによって ATP を消費して筋小胞体内へ能動輸送されると、筋原繊維は弛緩する(図6b)。

以上のように伝達された刺激によって、筋肉は10~20ミリ秒で収縮し、 Ca^{2+} -ポンプが働くと、100ミリ秒で弛緩する。

6. おわりに

私達が摂取した野菜類、魚類、肉類などは消化という一種の化学反応によって分解され、生体はこの分解生物の一部を吸収する。吸収された分解生成物は生体関連物質を合成するための原料になる。とくに、細胞内に吸収された分解生成物は成分ごとに特定の小器官へ送り込まれ、遺伝情報にしたがってアデノシン三リン酸(ATP)、核酸(DNA, RNA)、タンパク質等等が合成される。したがって、このような小器官は一つの総合化学工場であると見做すことができ、細胞は個々の化学工場であるということにもなる。

研究室や工場において、物質を分解したり、合成したりする場合、加熱または加圧という手段が用いられるが、

生体では常温常圧のもとで、これらの反応がスムーズに進行している。これは酵素という触媒が働くからである。酵素には、金属元素がなくても酵素活性をあらわすものもあるが、多くの酵素は金属元素の存在下で、または金属元素と結合して酵素活性を示す。すでに説明したように、 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} は酵素を活性化する能力をもっている。したがって、これらが不足すると、細胞内外で正常な化学反応が進まなくなり、生体関連物質の合成に支障をきたすようになる。その結果、体調に異常があらわれ、疾病の原因になるであろう。そのために、日頃から Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} などが比較的豊富に含まれている緑色野菜の摂取に心掛けなければならない。

最後に、本稿を書くにあたって、多大の御教示を頂いた関西大学工学部、教養化学の工学博士浦上忠教授に厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) 今井 弘, "The Chemical Times", 関東化学 K.K. No. 1, p. 8: No. 2, p. 26(1988).
- 2) J. C. Skou, *Biochim. Biophys. Acta.*, **23**, 394(1957).
- 3) I. M. Glynn, V. L. Lew, *J. Physiol.*, **207**, 393(1970).
- 4) P. Siekevitz, V. R. Potter, *J. Biol. Chem.*, **201**, 1(1953).
- 5) F. D. Vashington, J. V. Murphy, *J. Biol. Chem.*, **237**, 2670(1962).
- 6) B. Chance, *J. Biol. Chem.*, **240**, 2729(1965).
- 7) P. Mitchell, *Biol. Rev.*, **41**, 445(1966).

参考図書

- 1) 長野 敬, "生体膜と膜透過", 化学の領域, 増刊103号, 南江堂, (1974).
- 2) 大沢文夫, 葛西道生, 松浦剛, 豊島喜則, 岸本卯一郎, 村山直広, "膜の機能", 共立化学ライブラリー13, 共立出版, (1977).
- 3) 中垣正章編, "膜学入門", 喜多見書房, (1978).
- 4) 香川靖雄, "生体膜と生体エネルギー", 東京大学出版会, (1979).
- 5) 中原昭次, 山内 脩, "入門生物無機化学", 化学モノグラフ28, 化学同人, (1981).
- 6) J. B. フィネアン, R. コールマン, R. H. ミッチェル, 訳, 佐藤了, 日野幸伸, "生体膜と細胞活動" 第2版, 培風館, (1981).
- 7) A. M. Fiebner, D. R. Williams, 訳原口結彦, "生物無機化学の基礎", 化学セミナー6, 丸善, (1981).
- 8) 大塚齊之助, 山中健生, "金属タンパク質の化学", 講談社サイエンティフィク, (1983).
- 9) 山川浩司, 松島美一, 久留正雄, "有機金属錯体の化学", 講談社サイエンティフィク, (1985).
- 10) R. W. Hay, 訳太田次郎, 竹内敬人, 室伏きみ子, "生体無機化学", オーム社, (1986).

*5 これは筋細胞中にある小器官で、筋細胞内の大部分の Ca^{2+} はここにある。この小器官は Ca^{2+} を取り込み、貯蔵し、遊離させる能力をもっている。

*6 これはカルシウム結合性タンパク質で、筋小胞体内の大部分の Ca^{2+} はこれと結合している。分子量は約33000で、1mol 当り 43mol の Ca^{2+} を含む。

くすりの文化交流(12)

— 文明開化の贈物 —

日本薬史学会 薬学博士 根本 曾代子

近代国家の条件

平成元年(1989)は、明治22年(1889)4月1日に市制・町村制が施行されてから100周年を祝って、各市で趣向を凝らした市制100周年記念博覧会が盛大に繰り広げられた。

明治維新(1868)の流血の惨をくぐり抜けた近代革命の試練を経て22年、政府は不慣れな外交折衝によって、懸命に先進文明の摂取を図り、ようやく近代日本の基礎を確立したところであった。

明治22年度の最大の歴史的事項としては、市制に先立つ2月11日の紀元節(建国記念の日)に、先進国憲法に遜色なき大日本帝国憲法発布に集約される。一般民衆はまだ憲法の真価や重要性も不得要領の風潮であったが、国威宣揚を象徴する憲法発布に熱狂して、日本国中津々浦々でお祭りの歓呼にわき立っていた。

しかし、当時の国際的地位はまだ後進の域から脱出できなかった。安政5年(1858)幕府が米欧5ヵ国の強請によって調印した通商条約の屈辱的な条項を、歴代の政府が撤廃を要求しても不調に終わった。

幕府は神奈川(横浜に変更)、箱館(函館)、長崎を開港場(1年後)に指定し、周辺の地域を外国人居留地に提供した。居留地を日本の官憲の手の及ばない治外法権と規定した不平等条約の改正が、政府の最大の難問であった。たとえば、外国商人が日本人の生命・健康に有害な贗薬や粗悪薬品を取引しても、居留地内では傍観せざるを得なかったのである。

ようやく解決の曙光が見えたのは、明治27年(1894)8月1日の清国に対する宣戦布告を前にして7月16日、国際法によってイギリスが率先して、戦時における通商航海条約に調印し、アメリカが続いた。戦果は日本の勝利に帰して、国際的に進出する機運に向った。安政以来42年を経て明治32年(1899)7月17日、念願の不平等条約の改正によって、“居留地における治外法権”が撤廃された。

平均寿命のパロメーター

周知のように、終戦によって、旧帝国憲法は全面的に改正され、国民主権、平和主義、基本的人権等を基調にした日本国憲法が昭和21年(1946)11月3日公布された。翌昭和22年5月3日(憲法記念日)実施、現在に至っている。

戦後の荒廃と混乱を克服して、日本は今や科学・技術の革新とともに経済大国の豊かさのなかで、世界一の長寿国として内外の注目をあつめている。平均寿命の基準となるのは、出生時の平均余命から算出されるので、抵抗力の弱い乳児の死亡率が決め手となる。100年前ごろの明治20年代の平均寿命は、人生50年には程遠い30年代にも及ばなかったようである。

平均寿命を左右する伝染病はすでに廃語となった。WHOは1979年(昭和54)10月26日、天然痘が地球上から絶滅したことを宣言した。天然痘は日本の医療史に最古の伝染病として登場する。8世紀初めの奈良時代に仏教とともに潜入して猛威をふるった。737年の記録によると、宮廷の政府長官が死に絶えて、政務を一時中断したというほどであった。自然の哲理から保健衛生を説く仏教信仰は深まったが、病菌は執拗に人間の運命を翻弄した。

ようやく曙光が見えたのは1796年、イギリスのE.ジェンナーが発見した牛痘接種を、嘉永2年(1849)オランダ貿易の随員として長崎に来任した医師O.モーニケが伝えた。佐賀藩主鍋島齊正が領民の天然痘禍救済のため、藩医橋本宗建に命じて、幼い世子と姫に接種して範を示した。宗建は医の倫理から全国に伝えるため、行脚の遠路をいとわず、新鮮な痘苗を確保する痘児を同伴して、京都と江戸の蘭方医に送り届けた。次第に各地に広まったが、安政5年(1858)4月、最初に大坂町奉行所が官許に踏み切るまでには、10年近い試練の歳月を経なければならなかった。江戸の民間種痘所が幕府の西洋医学所(東京大学医学部の源流)に昇格したのは、2年後である。明治3年(1870)4月24日、種痘法が公布された。

インドが発源地といわれるコレラが長崎から最初に上陸したのは文政5年(1822)秋で、京阪以東には進行しなかった。2度目は安政5年(1858)で、全国的に流行した。

明治時代の最初のコレラ禍は、明治10年(1877)9月、国力を結集した西南戦争の鎮圧と入れ違いに、コレラが全国的に蔓延した。2年間の死者10万余、患者16万余という惨状であった。最上の防疫対策は、米人医師 D. B. シモンズの指示による石炭酸消毒が有効であった。しかし高価な輸入品で、ポンド瓶(454 g)単位の在庫はたちまち底をつき、価格が暴騰した。

政府は緊急措置として、東京司薬場(現国立衛生試験所)の薬品試験監督オランダ人 P. C. プリュヘに石炭酸の至急生産を命じた。プリュヘは東京と横浜のガス局から入手した石炭タールを原料として、日本では未開発の有機合成の技法によって、不眠不休で職員を督励し、石炭酸製造の使命に応えた。

保健衛生知識の低下や公共施設の不備から、コレラはしばしば大流行した。明治44年間のコレラによる死者は37万余で、日清(明治27~28年)、日露(37~38年)両戦役の戦死者を上回るといわれる。

近代薬学の夜明け

わが国有数の国際都市、横浜市の歴史的発展の開幕は、135年前の安政元年(1854)にさかのぼる。1月早々、アメリカ使節ペリーが9隻の船隊を率いて神奈川沖に碇泊し、前年の約を求めて、威嚇的に大砲を発射し、幕府の決断をうながした。老中阿部正弘は意を決して、東海道五十三次の宿駅で賑わう神奈川宿から離れた横浜村を会見場所に指定した。

江戸湾に面した当時の横浜村は、その名のように浜辺に100戸足らずの家が横並びに軒を列ねた寒村に過ぎなかった。安政元年3月3日、江戸幕府の命を受けた町奉行の井戸覚弘、林大学頭らがペリーと会見して、和親条約(神奈川条約)に調印した。条項によって、下田、箱館両港を開き、薪・食料の補給、提供を約した。この日米使節会見の史跡を語る記念碑が、神奈川県庁付近に当時を偲ばせている。

この会見の際、ペリーは幕府に電信機や汽車の模型などを贈った。幕府使節はレールの上を走る蒸気機関車に驚き、近代文明の威力を思い知った。幕府からは米200俵を進呈したが、軽々と運ぶ力士の怪力はアメリカ側の目を見はらせた。

幕府が寛永16年(1639)鎖国を断行してから安政元年に至る215年の間に、18世紀から19世紀にかけて、世界の情勢は近代化に変貌を遂げていた。アメリカの独立宣

言(1776)、封建制を打破したフランス革命(1789)と前後して、イギリスで起こった産業革命による大量生産の新しい市場を東洋に求めて来たのであった。

近代自然化学の確立とともに、近代薬学のとびらを開いたのは、ドイツの新進の薬剤師 J. B. トロムスドルフで、18世紀末、独創的な有機化合物の分析法を発明した。彼の門下の薬剤師 F. W. A. ゼルチュルネルは薬局実験室で、有機分析法によって19世紀初め、阿片の麻酔成分モルヒネを抽出して、アルカロイド化学の先鞭をつけた。つづいてフランスのペレチエらがキニーネほかのアルカロイドを次々に発見した。

トロムスドルフ門下の E. メルクは、多数アルカロイドの製品化に成功し、1832年以降、キニーネ、モルヒネ、エメチン、ストリキニーネなどのほか、新製品を世界市場に売り広めた。日本にも通商が開始されたが、品質鑑定の知識や取締が無いため、贋薬が横行した。

横浜の先駆者

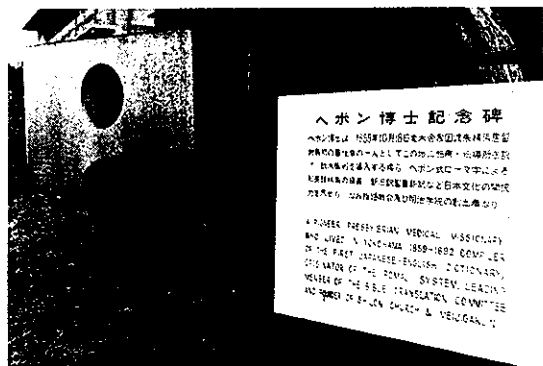
幕府は通商を迫る列強の攻勢に押し切られて、安政5年(1858)6月、米国につづいて各国と修好通商条約に踏み切った。翌年神奈川の開港を承認したのを急に、横浜に変更して改装工事を進め、安政6年(1859)6月2日の開港に間に合わせた。

海に面した開港場のほぼ中央に運上所(明治7年税関と改称)の東側に外人居留地、西側に日本人町が区画された。翌万延元年(1860)には、居留地の一番乗りのイギリスのジャーデン・マジソン商会が、英1番館を建設した。アメリカのウォルシュ・ホール商会が2番館にアメ1の看板を掛けた。こうして居留地に各国領事館や商館が建ち並び、開港5年後には100番館を超え、居留民は1,000名余りに上った。邦人町の戸数は9,000戸に達し、人口2万余の港町は現在300万余を数える横浜市の原点である。

横浜市の旧居留地37番館のヘボン診療所跡に、風変わりな記念碑(写真)が建っている。米国宣教師・医師の J. C. ヘボン博士(Hepburnの日本の通称)は夫人同伴で安政6年9月、開港直後の横浜に上陸した。幕府はキリスト教禁止で、居留地の診療所が落成するまで、神奈川在の成仏寺で施療に従事していた。

開港場の活況に引きかえ、周辺の漁村は貧しく、ヘボンの観察によると、日本には病院が無いので天然痘が流行して、3人に1人は顔に痘痕があり、肺病や眼病が多かった。眼病の漁師を手真似で治療したら大喜びで、たった1滴で治ったと言いつらしたので、たちまち門前に患者が押し掛けたという。

文久2年(1862)居留地の新居に移り、施療と塾生の



指導に当たった。ヘボン塾から後年大成した三宅秀(帝国大学医科大学初代学長)、林董(外務大臣)、阜矢仕有(丸善書店創業者、医薬品・書籍輸入の草分け)らが輩出した。ヘボン夫人主宰の英語塾の抜群は高橋是清(総理大臣・大蔵大臣)である。

そのころ江戸で名優と評判の高い沢村田之助が悪性の脱疽に冒され再起が危ぶまれた。慶応3年(1867)9月、ヘボン博士がクロロホルムを麻酔薬に用いて手術に成功した。田之助は感謝のしるしに、ヘボンの斡旋でアメリカから取り寄せた義足をつけて、横浜下田座で特別興行を催した。大評判になり、ヘボン執刀の田之助施術の図が華やかな錦絵になった。

ヘボンは言葉の通じない不自由を痛感して、辞典の編纂に取組み、岸田吟香の協力で、独創的なヘボン式ローマ字を基本として、最初の「和英語林集成」(1868)を出版し、高く評価された。岸田吟香はヘボンから謝礼に贈られた眼薬の処方で、最新式の点眼薬を創製した。精綺水と命名して成功し一代の産を築いた。

米人宣教師・医師のD. B. シモンズはヘボンより約2週間後に横浜に上陸した。横浜で医院を開き、住民の治療と衛生の向上に努め、わが国の医学薬学の進歩に貢献

した恩人の一人である。日本人に多い回虫駆除に「西洋虫下し」と呼ばれた新薬のセメン円(サントニン)を用いて治療効果をあげたので、「セメン先生」の名で親しまれた。

明治2年(1869)横浜に創設された民営の中央病院の主任医師に推されて就任した。シモンズ医師が率先して政府当局に、コレラおよび防疫対策に石炭酸消毒の有効を勧告したことは前に触れた。

中央病院は明治7年(1874)、神奈川県立十全病院(現横浜市立大学医学部付属病院)となり、公共医療機関に組織を改めた。シモンズは主任医師として市民の病氣治療の本務に精励して成果をあげた。滞日22年、明治14年(1881)帰国に際し、医療・保健衛生の向上普及に尽くした貢献に対して勲五等が贈られた。

ヘボン、シモンズと並んで、横浜市民の保健衛生の向上に尽くしたA. J. C. ゲールツの功績も併記しておきたい。

ゲールツはオランダ・ユトレヒト陸軍医学校薬劑学教官から、明治2年長崎医学学校予科教師に推薦された。輸入薬品に粗悪品が多いことを長崎税関長官に進言して、薬品試験所設置を勧告したことが明治7年、東京司薬場創設の口火となった。

明治10年5月開設した横浜司薬場監督に赴任して、薬品試験指導に力を注いだ。前述のように秋ごろから外国船で運ばれたコレラ菌が全国的に猛威をふるった。ゲールツは率先して県当局に消毒所や避病院の急務を力説する一方、政府に対して、港湾停船規則、伝染病予防規則等の制定を進言して実施された。

明治13年、日本薬局方編纂委員となり、本務の余暇は日本研究の執筆に骨身を削った。明治16年(1883)8月30日、過労から40歳の生涯を閉じた。生前の功績に対し、勲四等旭日小綬章を贈られ、外人墓地に手厚く葬られた。80歳で永眠したキワ夫人が傍らに眠る。

〈編集後記〉

朝露や虫のすだく音に詩情を誘われ、勉学や行楽にとっても、絶好の季節になりました。

今回は、新しく山村、西山両先生や、以前にもご登場願った栗原先生、そして今井、根本両先生にも前号より

引き続いて、それぞれご執筆賜わり、内容的にも、各専門分野の興味深い記事を掲載させて頂くことができ、厚くお礼申し上げます。

ご愛読の皆様方には、今後とも、尚一層のお引立をお願い申し上げます。〈松田記〉



関東化学株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 279-1751

編集責任者 松田 三郎 平成元年10月1日発行